

LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO EN LA CLÍNICA MÉDICA DE HOY

Bioq. María Eugenia Dacharry
4 sep 2018

DEFINICIÓN

- Enfermedad **inflamatoria crónica** de naturaleza **autoinmune** caracterizada por la afectación de múltiples órganos y sistemas y por la presencia de anticuerpos antinucleares (ANA).
- Etiología multifactorial, existen factores genéticos, hormonales y ambientales.
- Afecta principalmente a mujeres jóvenes (proporción mujeres/hombres 9:1)

CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN DEL LES (American College of Rheumatology, revisados en 1982)

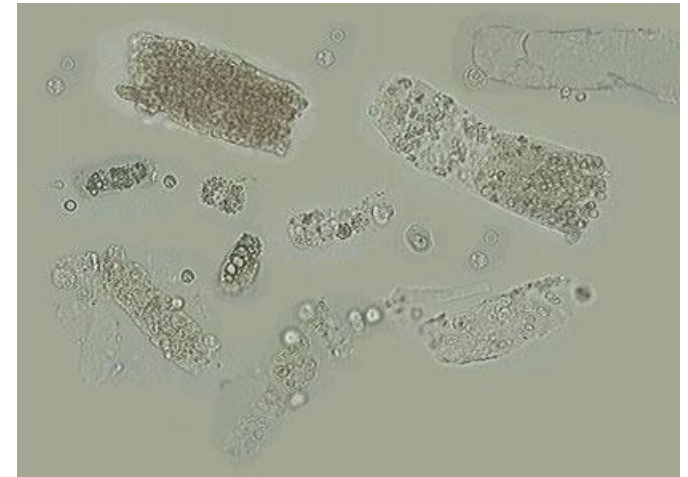
1. Eritema malar
2. Eritema discoide
3. Fotosensibilidad
4. Úlceras orales
5. Artritis
6. Serositis
- 7. Enfermedad renal**
8. Alteraciones neurológicas
- 9. Alteraciones hematológicas**
- 10. Alteraciones inmunológicas**
- 11. Anticuerpos antinucleares**

ALTERACIÓN RENAL

- Proteinuria persistente mayor a 0,5 g/día.
- Cilindros celulares: pueden ser de eritrocitos, hemoglobina, granulares, tubulares o mixtos.

Evaluación renal:

- ✓ Proteinuria de 24 hs
- ✓ Dosaje de urea y creatinina
- ✓ Sedimento urinario (hematuria y cilindruria)



ALTERACIONES HEMATOLÓGICAS

- Anemia hemolítica con reticulocitosis
- Leucopenia: menos de 4.000/mm³ en dos o en más ocasiones
- Linfopenia: menos de 1.500/mm³ en dos o más ocasiones
- Trombocitopenia: menos de 100.000/mm³ en ausencia de fármacos que produzcan esta alteración

Evaluación Hematológica:

- ✓ Hemograma y recuento de plaquetas
- ✓ Reticulocitos
- ✓ Valoración del Fe

EVALUACIÓN DE REACTANTES DE FASE AGUDA

✓ Eritrosedimentación (VES) y PCR.

VES: Notablemente elevada.

Inespecífica: aumenta en procesos inflamatorios, infecciosos y por causas fisiológicas.

Útil como prueba de orientación en el examen general del paciente.

PCR: Normal o levemente aumentada.

Inespecífica.

Aumentos progresivos correlacionan con aumento de la inflamación, es más sensible y responde más rápidamente que la VES.

Es útil en la detección de infecciones ocultas.

EVALUACIÓN DE REACTANTES DE FASE AGUDA

✓ Complemente sérico.

Hipocomplementemia.

Se detectan **niveles bajos** de los factores **C3**, **C4** y actividad total **CH50**.

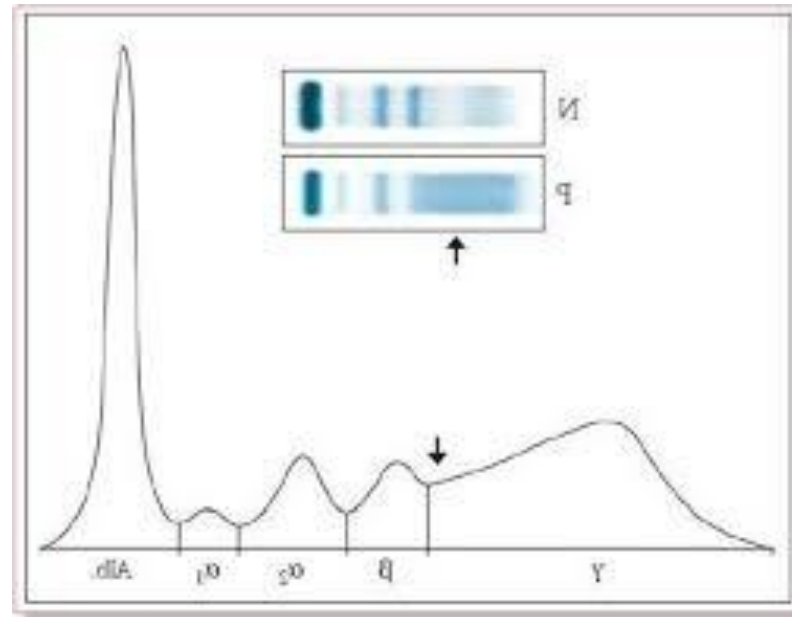
Mayor consumo debido a la activación episódica y descontrolada de las proteínas del complemento por producción de complejos inmunes circulantes (ICC).

Es un valor sensible para medir **actividad** clínica del LES.

EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

✓ Proteinograma por electroforesis.

Hiperproteïnemia acompañada de **hipoalbuminemia** e **hipergammaglobulinemia** de carácter policlonal.



ALTERACIONES INMUNOLÓGICAS

- Anti-DNA: título anormal de anticuerpos contra DNA nativo
- Anti-Sm: Presencia de anticuerpos contra antígeno nuclear Sm
- Hallazgo positivo de Anticuerpos antifosfolipídicos (AFL) basado en:
 - ✓ Anticuerpos anticardiolopina IgG o IgM,
 - ✓ Anticoagulante lúpico (método estándar), o
 - ✓ Falso positivo VDRL, que persiste 6 meses con resultado negativo en pruebas treponémicas.

ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

- Un título anormal en cualquier momento de la enfermedad y en ausencia de fármacos conocidos como causantes de lupus inducido.

Son autoanticuerpos dirigidos contra diversos autoantígenos que incluyen componentes del núcleo, nucléolo, del citoplasma y de las membranas celulares.

La evaluación de los resultados debe desarrollarse en el contexto de la clínica pues algunos anticuerpos no son específicos de las colagenopatías.

ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

✓ ANA positivos.

Pueden hallarse en:

- LES (95-99 % de los pacientes)
- Enfermedades sistémicas del tejido conectivo
- Enfermedades autoinmunes: Síndrome de Sjögren, espondilitis anquilosante, artritis reumatoidea, hepatitis autoinmune, esclerodermia, polimiositis y dermatomiositis.
- Infecciones crónicas
- Neoplasias
- Ancianos
- Embarazadas
- Drogas

ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

✓ ANA negativos.

Los ANA pueden ser negativos en pacientes con LES:

- ✓ 2-5% de los pacientes con actividad y sin tratamiento pueden ser ANA (-).
- ✓ 15% de los pacientes pueden volverse ANA (-) luego del tratamiento o cuando la enfermedad se vuelve inactiva.
- ✓ Un grupo de pacientes con compromiso renal terminal pueden volverse ANA (-) al perder sus proteínas por riñón

ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

✓ Detección de ANA

Técnica: Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

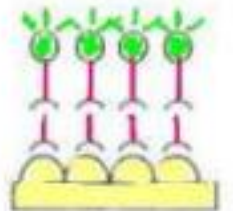
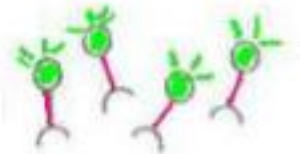
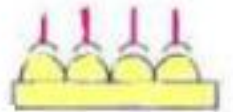
Muestra: suero

Fundamento:

El suero del paciente es puesto en contacto con el sustrato antigénico.

Si el anticuerpo está presente en el suero se unirá al antígeno formando un complejo antígeno-anticuerpo.

Se adiciona un anticuerpo anti humano conjugado con fluoresceína que se unirá al complejo.



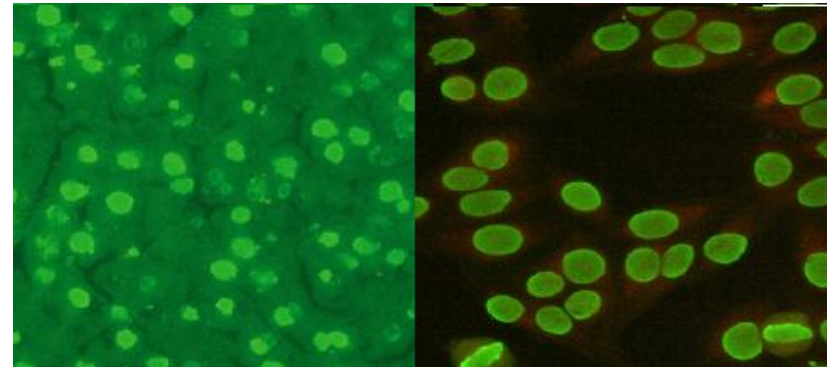
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

✓ Sustrato antigénico

Improntas de hígado de roedor o células de cultivo de carcinoma humano (Hep-2).

Ventajas de utilizar Hep-2:

- ✓ Mayor sensibilidad (alta concentración de antígenos).
- ✓ Mayor especificidad que los tejidos animales (origen humano).
- ✓ Mayor tamaño nuclear y nucleolar.
- ✓ Presentan células en división
- ✓ Distribución antigénica uniforme.



ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

✓ Título de los Anticuerpos

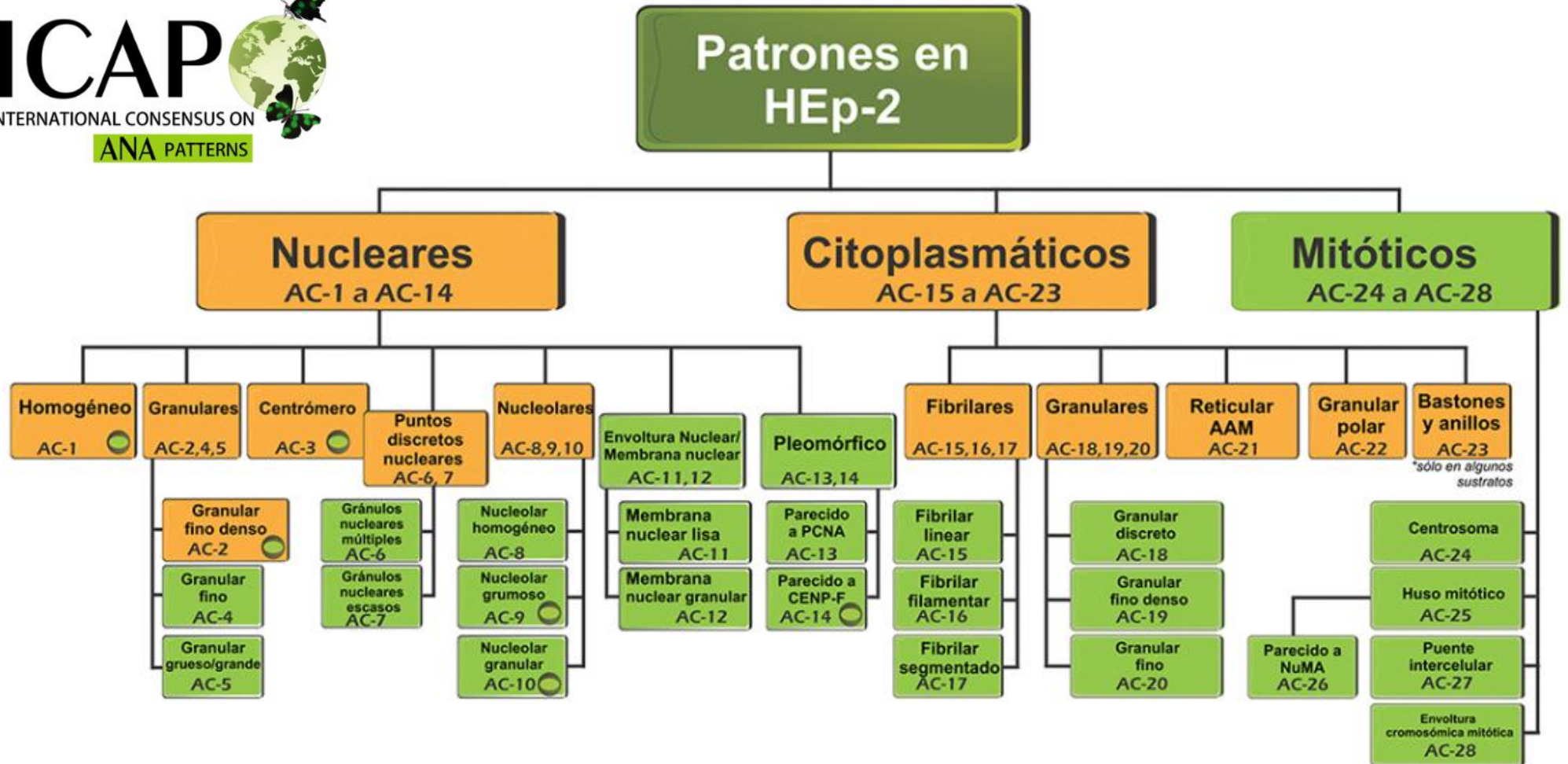
Se define el título como la dilución mayor que da un resultado positivo.

Se consideran significativos títulos mayores a 1/160

✓ Patrón de los Anticuerpos

Las líneas celulares permiten distinguir distintos patrones nucleares, citoplasmáticos y relacionados con el ciclo celular. Puede sugerir la patología causante del desequilibrio.

ANTICUERPOS ANTINUCLEARES



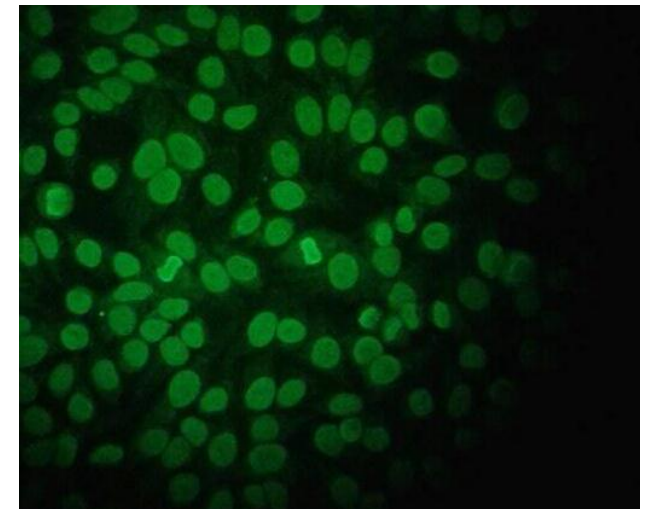
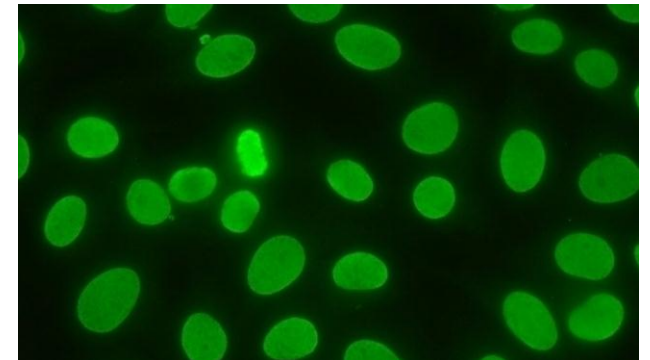
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

✓ Patrón homogéneo

Fluorescencia homogénea y regular a través de todo el nucleoplasma, los nucléolos pueden o no fluorecer dependiendo del sustrato celular. Las células en mitosis tienen la cromatina intensamente fluorescente de manera homogénea.

Antígenos asociados: dsADN, nucleosomas, histonas

Enfermedades asociadas: **LES**, lupus inducido por medicamentos, artritis idiopática juvenil.



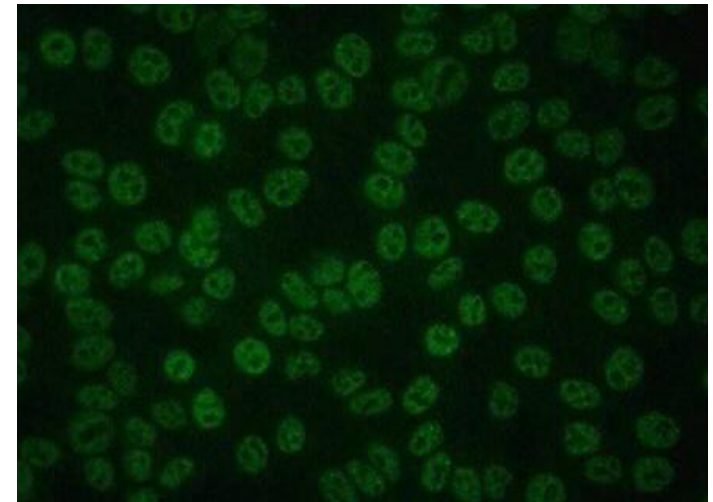
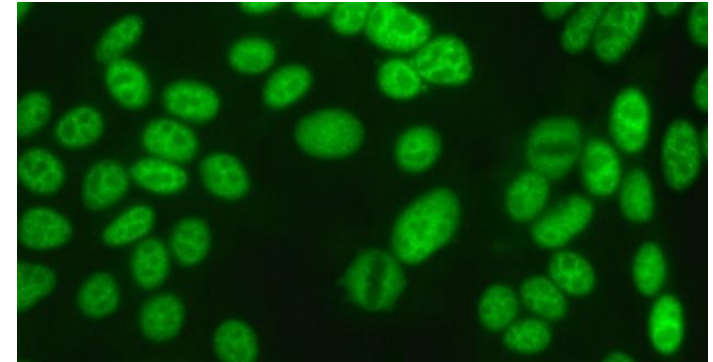
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

✓ Patrón moteado fino

Gránulos diminutos finos a través de todo el nucleoplasma. El nucléolo puede teñirse o no. Las células mitóticas (metafase, anafase y telofase) tienen la masa de la cromatina no teñida.

Antígenos asociados: SS-A/Ro, SS-B/La, Mi-2, TIF1

Enfermedades asociadas: SSj, **LES**, dermatomiositis



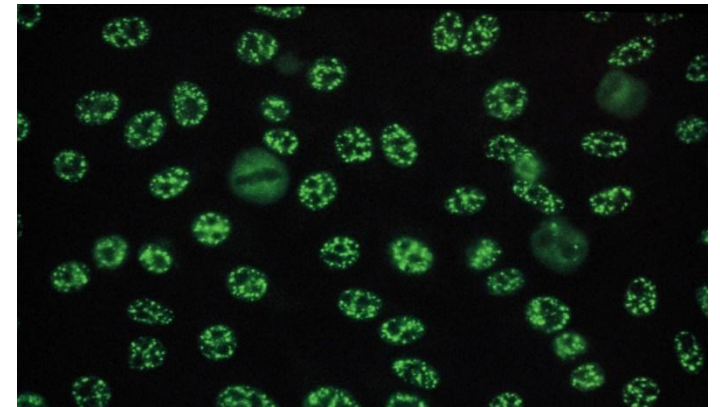
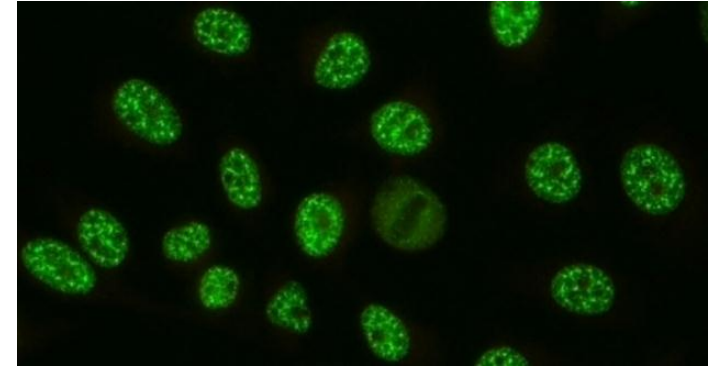
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

✓ Patrón moteado grueso

Gránulos gruesos a través de todo el nucleoplasma. El nucléolo puede teñirse o no. Las células mitóticas (metafase, anafase y telofase) tienen la masa de la cromatina no teñida.

Antígenos asociados: hnRNP, U1RNP, Sm, ARN polimerasa III

Enfermedades asociadas: EMTC, **LES**, ES



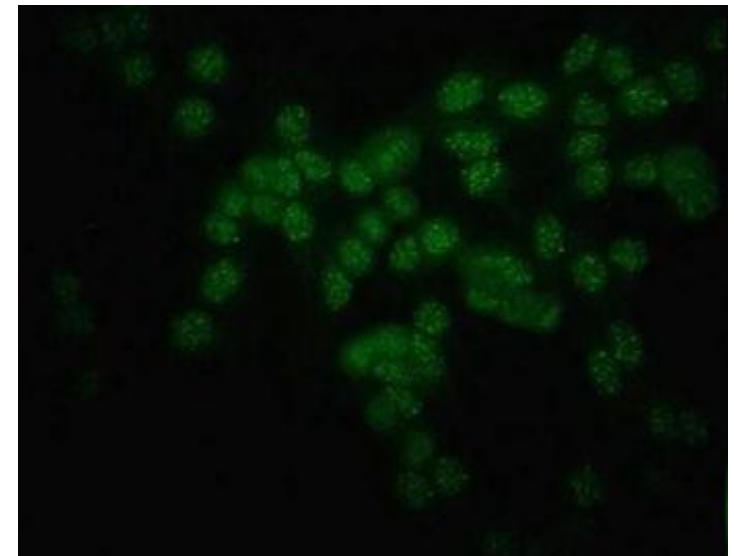
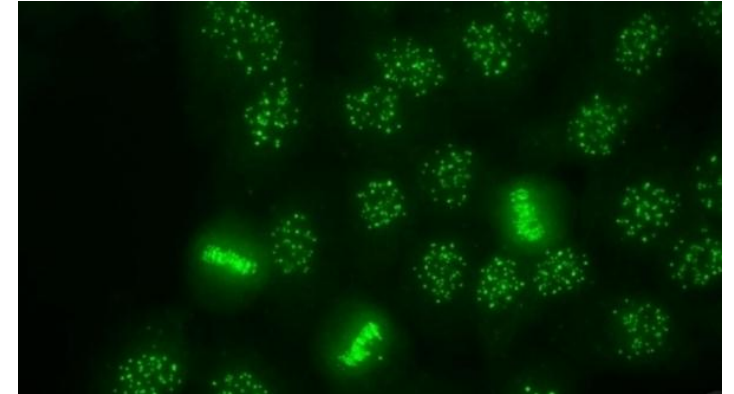
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

✓ Patrón centromérico

Granular grueso discreto (40-80/célula) dispersos en los núcleos de las células en interfase y alineados en la masa de la cromatina en las células mitóticas.

Antígenos asociados: CENP-A/B

Enfermedades asociadas: ES cutánea limitada, CBP



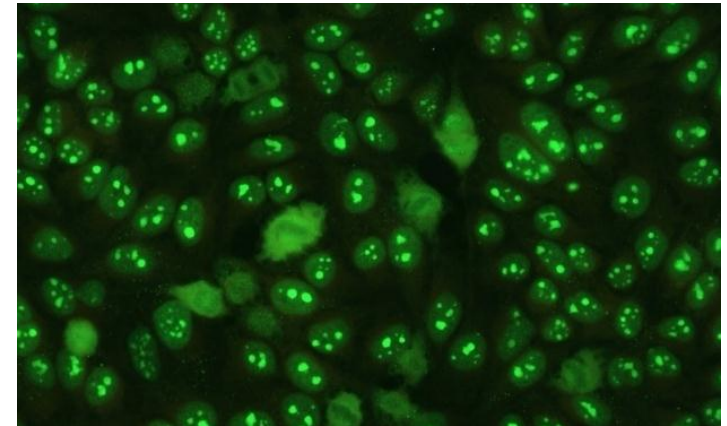
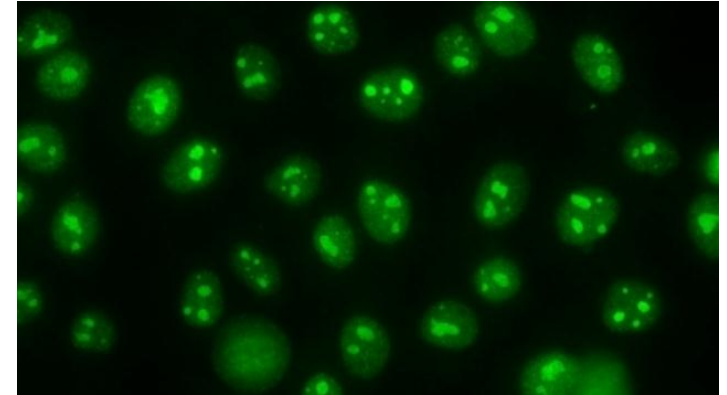
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

✓ Patrón nucleolar

Fluorescencia difusa en todo el nucléolo, mientras que la placa metafásica no muestra tinción.

Antígenos asociados: PM/Scl-75, PM/Scl-100, Th/To, B23/nucleofosmina, nucleolina, No55/SC65

Enfermedades asociadas: ES, ES/PM



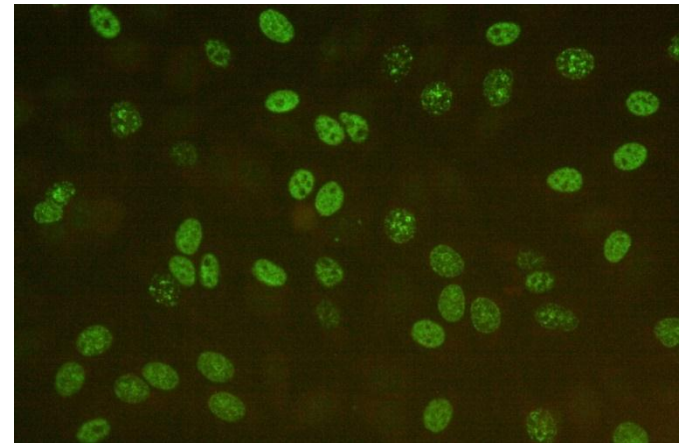
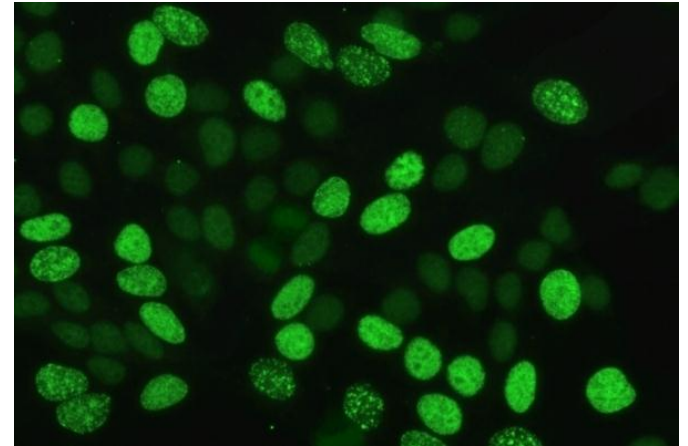
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

✓ Patrón moteado pleomórfico PCNA

Tinción nucleoplasmática moteada pleomórfica, con variabilidad en tamaño y brillo de las motas. En la interfase, algunas células son negativas, algunas están intensamente teñidas y algunas presentan motas raras y dispersas con tinción nucleolar ocasional. Las células mitóticas no están teñidas.

Antígenos asociados: PCNA

Enfermedades asociadas: **LES** (3%)



CONFIRMACIÓN

Para **confirmar la especificidad** del autoanticuerpo que dio un patrón de inmunofluorescencia por IFI, se deberá realizar otras pruebas inmunológicas de mayor especificidad utilizando antígenos específicos (ELISA, WB, Dot Blot, inmunoensayo lineal, etc).



EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

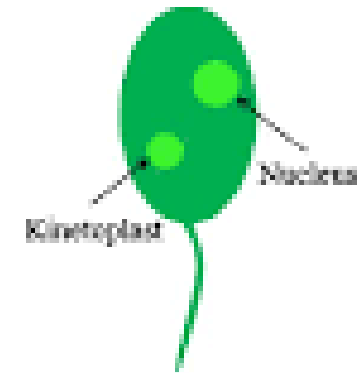
✓ Ac. Anti DNA

Ac. anti-DNA_{ss}: tiene bajo valor diagnóstico. Su hallazgo es inespecífico y frecuente en la población que no presenta LES.

Ac. anti-DNA_{ds} o nativo: su hallazgo es específico de LES, se detecta en un 60-80% de los pacientes. Su negatividad no descarta la enfermedad.

Métodos: **IFI, RIA o ELISA.**

La IFI utiliza como sustrato *Crithidia luciliae*, un protozoo hemoflagelado que presenta un cinetoplasto con alta concentración de ADN nativo.



EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

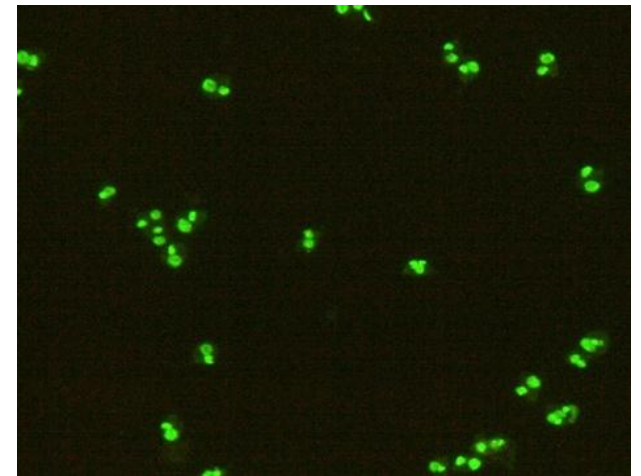
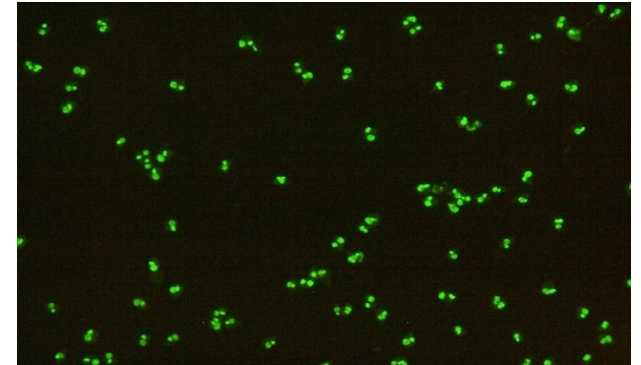
✓ Ac. Anti DNA de doble cadena o nativo

Son específicos de LES (criterio diagnóstico de LES)

Pueden desaparecer en la fase crónica, reapareciendo en los períodos de exacerbación.

La caída del título en respuesta al tratamiento y su aumento en la fase aguda hacen que se pueda utilizar para **vigilar el curso clínico**.

Una elevación de los títulos de anti-DNA junto a la caída del complemento, es un rasgo característico de implicación renal.



EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

✓ Ac. Anti Sm

Métodos: **IDR, ELISA, Inmunoblotting**

Su hallazgo es altamente específico de LES (E>90%)

Tiene baja sensibilidad (se lo detecta en el 30% de los casos)

Expresión persistente, permanece generalmente estático durante el curso de la enfermedad

✓ Ac. Anti-U1-nRNP

Métodos: **IDR, ELISA, Inmunoblotting**

Presente en 30% de los pacientes con LES y en todos los pacientes con EMTC

Generalmente se acompaña con FAN en títulos altos

EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

✓ Ac. Anti Ro/SSA

Métodos: **IDR, CIEF, Inmunoblotting y ELISA**

Se detecta con una frecuencia elevada (30 a 60%) en LES, 70% en LES subcutáneo agudo y 70-80% en lupus neonatal.

Aparece también en SS, superposición SS/LES y SS/esclerodermia.

✓ Ac. Anti La/SSB

Métodos: **IDR, CIEF, Inmunoblotting y ELISA**

Rara vez se observa en ausencia de anti-Ro

Se detecta en 10% de los pacientes con LES, es más frecuente en SS

EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

✓ Ac. Anti Histona

Métodos: **ELISA** y **RIA**

Son pequeñas proteínas ricas en AA básicos que se unen al DNA

Se detecta en el 90% de los pacientes con LE inducido por drogas y en el 30-70% de pacientes con LES

La positividad para anti-histonas desnaturalizadas (libres de DNA) son inespecíficas, pueden aparecer en otros cuadros autoinmunes como AR, SS, ES, CBP, enfermedades neurológicas e infecciosas

✓ Ac. Anti C1q

Métodos: **ELISA**

Se detecta en más del 40% de los pacientes con LES.

El 60% de los pacientes positivos para este marcador presentan nefropatía activa → **MARCADOR DE ENFERMEDAD RENAL**

EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

✓ Ac. Anti Ribosomal P

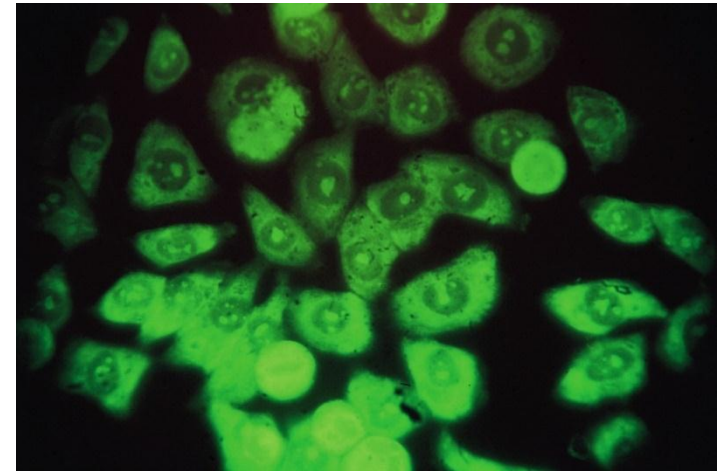
Métodos: **IFI, ELISA, inmunoblotting, CIEF**

Está dirigido contra las fosfoproteínas de la subunidad 60 del ribosoma.

Puede estar presente en el 10-20% de los pacientes con **LES**.

Se asocia, aunque es discutido, con compromiso neuronal (Psicosis lúpica).

En IFI se observa como un patrón mixto: Citoplasmático denso + nucleolar. **Se debe confirmar por otro método.**



EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

✓ Anticuerpos antifosfolipídicos

Grupo heterogéneo de autoanticuerpos dirigidos contra fosfolípidos de carga negativa (cardiolipina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, etc.)

En alrededor de 40% de los pacientes con LES se detecta positividad para uno o más de estos anticuerpos. Sólo 1/3 de estos pacientes tendrá manifestaciones clínicas.

Son capaces de producir trombosis arteriales y/o venosas, abortos a repetición y trombocitopenia.

Pueden estar presentes en forma primaria, o asociarse a innumerables condiciones patológicas, por lo que **no son específicos del lupus**.

La positividad de los anticuerpos no siempre se relaciona a eventos trombóticos. Si esto sucede hablamos de **SAF**

EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

✓ Anticuerpos antifosfolipídicos

Anticuerpos anticardiolipinas y Anti-beta-2-Glicoproteínas IgG e IgM

Método: ELISA

Altamente sensibles pero poco específicos para LES

Anticoagulante (inhibidor) lúpico

Método: Coagulométrico

La presencia de estos Acs puede conducir a **Falso positivo en pruebas serológicas de sífilis (VDRL)**. Confirmación con pruebas treponémicas.

GRACIAS POR SU ATENCIÓN
